

表 1 未除杂未浓缩提取液中甘草酸的酸沉结果

Table 1 Results of acid recipitation of glycyrrhizic acid for extraction liquid without impurity removal and concentration

pH 值	粗品质 量/g	质量分 数/%	收率 /%	耗酸量 /mL	实验现象
2.5	0.629 1	36.8	2.65	1.8	溶液变浑浊,产生少量沉淀
2.0	1.582 1	35.2	6.66	2.1	生成沉淀,分散性较好
1.5	2.098 2	30.6	8.83	2.4	产生沉淀,分散性较好
1.0	2.257 9	28.4	9.50	2.6	产生沉淀,黏度变大

表 2 未除杂的 10 倍浓缩液的酸沉结果

Table 2 Results of acid precipitation for ten times condensed liquid without impurity removal

pH 值	粗品质 量/g	质量分 数/%	收率 /%	耗酸量 /mL	实验现象
3.0	2.531 2	8.0	1.06	3.125	出现少量沉淀
2.5	4.463 9	12.0	1.87	3.53	出现少量沉淀,黏度大
2.0	6.459 1	11.2	2.71	3.95	有一定沉淀,黏度很大
1.5	5.023 3	9.8	2.11	4.33	有一定沉淀,沉淀物成流动状

除杂后的 10 倍浓缩液在 pH 2.5 时进行酸沉,沉淀均匀,所得甘草酸的质量分数和收率都较高,因此,酸沉 pH 值应选定为 2.5。将 400 mL 浓缩液在 pH 2.5 酸沉时消耗的 98% 浓硫酸的量折算成每千克甘草消耗 98% 浓硫酸的量为 21.15 mL,每千克甘草的酸性废液的量为 1.68 kg。

表 3 除杂后的 10 倍浓缩液酸沉结果

Table 3 Results of acid precipitation for ten times condensed liquid with impurity removal

pH 值	粗品质 量/g	质量分 数/%	收率 /%	耗酸量 /mL	实验现象
3.5	3.926 1	48.0	1.65	3.87	溶液变浑浊,出现少量沉淀
3.0	12.047 6	47.8	5.06	4.44	产生沉淀,分散性较好
2.5	17.309 5	41.2	7.27	5.04	产生沉淀,分散性较好
2.0	18.404 8	38.9	7.73	5.51	产生结块,黏度变大

3 讨论

产生不经过除杂直接浓缩的甘草浓缩液几乎不能酸沉甘草酸,主要原因是植物蛋白、胶体等杂质浓度增高,造成甘草酸析晶时包含杂质而不能成晶,故所得甘草酸的质量分数和收率都很低。经过除杂再浓缩的工艺是最佳工艺。根据结果认为,在此方法的基础上进一步除杂后寻找合理的酸沉条件,可直接得到 60% 左右质量分数的甘草酸产品,且收率也会再提高。故生产 60% 左右质量分数的产品可不用工序复杂、污水量大、收率低的树脂精制法或单盐醇沉法。本工艺能为企业降低能耗,增加效益,降低对环境的污染。

References:

- [1] Wang Z D. Preparation and application of glycyrrhizic acid [J]. *Sichuan Chem Ind* (四川化学工业), 1998(2): 53-56.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2005.

5 种中药注射液细菌内毒素检测方法的建立

宋晓坤¹, 李利娟²

(1. 天津医科大学附属肿瘤医院, 天津 300060; 2. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

中药注射液是我国特有的品种,临床应用越来越广泛。由于中药注射剂提取、制备复杂,流程长,极易引入热原,因此,中药注射剂造成污染的因素较多,质量标准也较难控制。中药注射剂一般采用热原检查法检查细菌内毒素。鉴于热原检查法成本高、繁琐等缺点,采用 BET 对中药注射剂进行检查已成为发展趋势。因此,本实验采用 BET 法对复方苦参注射液、注射用穿琥宁、艾迪注射液、参麦注射液和华蟾素注射液进行了细菌内毒素的检查。

1 实验材料

复方苦参注射液(山西金晶药业有限公司,规格 5 mL×5 支),注射用穿琥宁(哈尔滨三联药业有限

公司,规格 40 mL×10 支),艾迪注射液(贵州益佰制药股份有限公司,规格 10 mL×5 支),参麦注射液(正大青春宝药业有限公司,规格 10 mL×3 支),华蟾素注射液(安徽金蟾生化股份有限公司,规格 5 mL×10 支)。

鲎试剂(TAL, 0.1 mL/支, λ=0.5、0.25 EU/mL, 批号 20030830、20030509),细菌内毒素工作标准品(10 EU/mL, 批号 20021206),细菌内毒素检查用水(5 mL/支, 批号 20020531、20030324)。以上试剂均由福州新北生化工业有限公司,湛江安度斯生物制品厂提供。

电热恒温培养箱(天津市中环试验电炉有限公

司),液体快速混合器(江西医疗器械厂),净化工作台(天津市医药净化设备厂),光电分析天平(上海天平仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 TAL 灵敏度复核:将细菌内毒素工作标准品用检查用水溶解,在旋涡混合器上混匀 15 min,制成 2.0、1.0、0.5、0.25 λ 的内毒素溶液。每稀释一步混合 30 s,每一浓度平行做 4 支,同时做两支阴性对照管。封闭管口,垂直放入(37±1)℃,保温(60±2)min。结果见表 1。

表 1 鲎试剂灵敏度复核结果

Table 1 Sensitivity in limulus test

批号	λ/(EU·mL ⁻¹)	细菌内毒素浓度/(EU·mL ⁻¹)				阴性对照(NC) mL ⁻¹	λ _c /(EU·mL ⁻¹)
		2λ	1λ	0.5λ	0.25λ		
20030830	0.5	++++	----	----	----	----	1.0
030509	0.25	++++	++++	----	----	----	0.25
20030830	0.25	++++	++++	----	----	----	0.25
030509	0.5	++++	++++	----	----	----	0.5

2.2 MVD 值的计算:见表 2。

表 2 有关数值计算

Table 2 Relative numerical value

名称	M 值/(mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	L 值/(EU·mL ⁻¹)	MVD _{0.5}
复方苦参注射液	0.2	25	50
注射用穿琥宁	6.7	0.75	3
艾迪注射液	0.67	7.5	15
参麦注射液	0.4	12.5	25
华蟾素注射液	0.13	37.5	75

2.3 干扰预试验

2.3.1 阴性对照(NPC)系列制备: BET 用水以最大有效稀释倍数为起点(1:1),将样品按 1:1、1:2、1:4、1:8、1:16 稀释,即得样品系列溶液。每一稀释度做 2 管。

2.3.2 阳性对照(PPC)系列制备:将各样品按 NPC 系列同样倍数稀释,使每一稀释液都含有 2λ 浓度的标准内毒素。每一稀释度做 2 管。

2.3.3 测定结果:见表 3。结果表明,复方苦参注射液按最大稀释倍数 1:1、1:2 稀释有干扰,为抑制作用,按 1:4 稀释可能消除干扰。艾迪注射液按 1:1 稀释有抑制作用,按 1:2 稀释可能消除干扰。其他注射液在最大有效稀释倍数下可能无干扰作用。

2.4 干扰试验:用细菌内毒素检查用水将样品按预试验得出的无干扰浓度稀释,使每一稀释浓度分别含有内毒素浓度为 2.0、1.0、0.5、0.25 λ 的溶液;将内毒素稀释成浓度为 2.0、1.0、0.5、0.25 λ 的溶液;每一浓度均做 4 管,用供试品稀释液和检查用水各做 1 管阴性对照。使用湛江经济技术开发区海洋生物样品厂的鲎试剂进行实验,结果见表 4。结果表

表 3 干扰预试验结果

Table 3 Result of interference pretest

名称		样品稀释倍数				
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16
复方苦参注射液	NPC	--	--	--	--	--
	PPC	--	+	++	++	++
参麦注射液	NPC	--	--	--	--	--
	PPC	++	++	++	++	++
注射用穿琥宁	NPC	--	--	--	--	--
	PPC	++	++	++	++	++
艾迪注射液	NPC	--	--	--	--	--
	PPC	--	++	++	++	++
华蟾素注射液	NPC	--	--	--	--	--
	PPC	++	++	++	++	++

表 4 干扰试验结果

Table 4 Result of interference test

名称	λ 值/(EU·mL ⁻¹)	稀释倍数	产品批号	内毒素浓度			
				2λ	1λ	0.5λ	0.25λ
检查用水稀释	0.25			++++	++++	----	----
复方苦参注射液	0.25	1:4	20021007	++++	++++	----	----
			20020618	++++	++++	----	----
			20030403	++++	++++	----	----
检查用水稀释	0.5			++++	----	----	----
参麦注射液	0.5	1:1	0306134	++++	----	----	----
			0303084	++++	----	----	----
			0303054	++++	----	----	----
检查用水稀释	0.5			++++	----	----	----
穿琥宁注射液	0.5	1:2	030301	++++	----	----	----
			021102	++++	----	----	----
			021202	++++	----	----	----
检查用水稀释	0.5			++++	----	----	----
艾迪注射液	0.5	1:4	20030203	++++	----	----	----
			20030808	++++	----	----	----
			20030203	++++	----	----	----
检查用水稀释	0.5			++++	----	----	----
华蟾素注射液	0.5	1:1	030401	++++	----	----	----
			030202	++++	----	----	----
			030203	++++	----	----	----

明,复方苦参注射液经 1:4 稀释(400 倍)可消除抑制作用。穿琥宁注射液在 1:1 稀释下有抑制作用,按 1:2 稀释(6 倍)可消除干扰。艾迪注射液按 1:4 稀释(60 倍)可消除抑制作用。参麦注射液、华蟾素注射液在最大有效稀释倍数下无干扰作用。使用福州新北生化有限公司生产的鲎试剂进行干扰试验结果与上述一致。

2.5 检查:用检查用水溶解鲎试剂 5 支,2 支加入无干扰浓度稀释供试品,1 支加入检查用水作为阴性对照,1 支加入 2.0 λ 的内毒素溶液,1 支加入含 2.0 λ 内毒素溶液的供试品溶液。将上述溶液混合,垂直放入恒温培养箱中,(37±1)℃放置(60±2)min。注意保温,拿取试管过程中应避免振动造成的假阴性结果。结果见表 5。

表 5 检查结果

Table 5 Result of test

名称	批号	供试品	供试品阳性	阳性对照	阴性对照
复方苦参注射液	20021007	---	+	+	-
	20020618	---	+	+	-
	20030403	---	+	+	-
参麦注射液	0306134	---	+	+	-
	0303084	---	+	+	-
	0303054	---	+	+	-
穿琥宁注射液	030301	---	+	+	-
	021102	---	+	+	-
	021202	---	+	+	-
艾迪注射液	20030203	---	+	+	-
	20030808	---	+	+	-
	20030706	---	+	+	-
华蟾素注射液	030401	---	+	+	-
	030202	---	+	+	-
	030203	---	+	+	-

通过对每种注射剂的 3 批产品进行检查,结果

表明均符合规定。

结果表明,复方苦参注射液、注射用穿琥宁、艾迪注射液存在干扰作用,经过一定比例的稀释,均可消除干扰。参麦注射液、华蟾素注射液按照 MVD 稀释进行检查,没有干扰。因此,5 种中药注射剂可采用 BET 法进行细菌内毒素的检查。

3 讨论

在操作过程中,影响实验结果的因素很多。如试剂的混合,应严格按照要求混合 15 min;放置一段时间的内毒素溶液再使用时,应再次混合,以防止内毒素的聚集;操作时间、反应的温度和时间也应严格控制,避免出现假阳性结果。

Reference:

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

HPLC 法测定胃康灵胶囊中芍药苷和甘草苷

张科卫,李伟,崔小兵,蔡皓,吴皓*

(南京中医药大学,江苏南京 210029)

胃康灵胶囊由白芍、白及、甘草、茯苓等数味药组成,具有柔肝和胃、散瘀止血、缓急止痛、去腐生新之功效,用于治疗肝胃不和、瘀血阻络所致的胃脘疼痛、连及两胁、噎气、泛酸;急慢性胃炎,胃、十二指肠溃疡,胃出血见上述证候者。处方中的白芍、甘草为重要药材,其中芍药苷和甘草苷与药品质量有密切的关系。本实验采用 HPLC 法同时检测其中的芍药苷和甘草苷,操作简便,方法可靠,重现性好,可以作为本产品质量控制的方法。

1 仪器、试剂与药品

Waters 515 型高效液相色谱仪,2487 型双波长紫外检测器,717 自动进样器,Millennium 32 色谱管理系统;Sartorius BP211D 型电子天平;乙腈为色谱纯,冰乙酸为分析纯,水为亚沸蒸馏水(自制);芍药苷(批号 0736-200116)由中国药品生物制品检定所提供,甘草苷对照品由本实验室分离纯化制得,经 UV、IR、MS、NMR 等结构鉴定,HPLC 检测为单一成分,质量分数达到 99% 以上;胃康灵胶囊(自制,每粒 0.4 g)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.5%冰乙酸(16:84);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:230 nm(芍药苷)、276 nm(甘草苷);柱温:30 ℃。理论塔板数以芍药苷计不低于 5 000。此条件下经白芍、甘草空白对照试验,证明其他药材不干扰白芍、甘草的测定,并且芍药苷、甘草苷与其他组分的分离度均于大于 1.5,色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:分别取干燥至恒重的芍药苷、甘草苷对照品适量,精密称定,加 16%乙腈溶解,分别配成含芍药苷 204 μg/mL、甘草苷 228 μg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:取装量差异项下的胃康灵胶囊内容物约 0.2 g,研细,精密称定,置 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 16%乙腈 10 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 200 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用 16%乙腈补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。同法制备缺白芍、甘草的阴性对照溶液。

收稿日期:2006-02-29

作者简介:张科卫(1971-),女,助理研究员,硕士,从事新药研究与开发。 Tel:(025)86798269 E-mail:kewei_31@163.com

*通讯作者 吴皓